# Request Form for Translation

The world of foreign prior art to you. U. S. Serial No.: Requester's Name: Phone No.: PTO 2003-121 Fax No.: Office Location: S.T.I.C. Translations Branch Art Unit/Org.: **Group Director:** Is this for Board of Patent Appeals? NOT YET Phone: 308-0881 Fax: 308-0989 Date of Request: Location: Crystal Plaza 3/4 Date Needed By: Room 2C01 (Please do not write ASAP-indicate a specific date) SPE Signature Required for RUSH: To assist us in providing the most cost effective service, **Document Identification (Select One):** please answer these questions: \*\*(Note: Please attach a complete, legible copy of the document to be translated to this form)\*\* Will you accept an English Document No. Language Equivalent? Language **Country Code** (Yes/No) **Publication Date** (filled by STIC) Will you accept an English abstract? Author Language (Yes/No) Country Type of Document Would you like a consultation Country with a translator to review the Language document prior to having a **Document Delivery (Select Preference):** complete written translation? Delivery to nearest EIC/Office Date: (STIC Only) Call for Pick-up Date: LSTIC Only) (Yes/No) Fax Back Date: STIC USE ONLY-Copy/Search <del>Franslation</del> Processor: Date logged in: PTO estimated words: Date assigned: Date filled: Number of pages: Equivalent found: In-House Translation Available: (Yes/No) In-House: **Contractor:** Doc. No.: Translator: Name: Country: Assigned: **Priority:** Returned: Sent: Remarks: Returned:

**Translation Branch** 

CLIPPEDIMAGE= JP408173055A

PAT-NO: JP408173055A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 08173055 A

TITLE: MANNOSE-BASED POLYSACCHARIDE-CONTAINING FEED

PUBN-DATE: July 9, 1996

INVENTOR-INFORMATION: NAME HOSHIDA, SHINICHI KAWANO, TAKASHI IDOTA, MITSURU

INT-CL (IPC): A23K001/16; A23K001/16; A23K001/18; A61K047/36

#### ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain feed for domestic animals having excellent productivity and effective for preventing Salmonella pollution by mixing mannose-based polysaccharide.

CONSTITUTION: Feed for domestic animals mixed with mannose-based polysaccharide prepared by enzyme-treatment of guar beans or refuse of copra squeezed oil, etc., is administrated to contribute to productivity such as reducing of fatty liver fowls or reducing of a non-standardized egg ratio and effectively prevent Salmonella pollution.

COPYRIGHT: (C)1996, JPO

----- KWIC -----

Document Identifier - DID:

JP 08173055 A

DERWENT-ACC-NO: 1996-365490

DERWENT-WEEK: 199637

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Feeds contg. mannose gp. polysaccharides for prevention of Salmonella contamination - prepd. by culture of mammase producing microorganism in

mannan-contg. medium to cause partial decomposition of mannan.

PATENT-ASSIGNEE: HOSHIDA S[HOSHI], SEIBUTSU KAGAKU SANGYO KENKYUSHO

KK[SEIBN], YONICHI KAGAKU KENKYUSHO KKYUSHO KK[YONIN]

PRIORITY-DATA: 1994JP-0340863 (December 21, 1994)

PATENT-FAMILY:

MAIN-IPC PAGES LANGUAGE PUB-DATE PUB-NO A23K 001/16 004 July 9, 1996 N/A JP 08173055 A

APPLICATION-DATA:

APPL-DATE APPL-NO APPL-DESCRIPTOR PUB-NO

December 21, 1994 1994JP-0340863 JP08173055A N/A

INT-CL (IPC): A23K001/16; A23K001/18; A61K047/36

ABSTRACTED-PUB-NO: JP08173055A

BASIC-ABSTRACT: Feeds for prevention of contamination with Salmonella bacteria are prepd. by culture of a mammase producing microorganism in a medium contg. mannan to cause autodigestion and partial decompsn. of mannan.

Mannan derived from various plants (e.g. Palmae, Liliaceae, soybeans and guar gum) is decomposed by culture of mannan degrading enzyme producing microorganisms (e.g. beta-mannosidase derived from Bacillus subtilis ATCC 12711 and hemicellulase derived from Aspergillus niger). The produced mannose gp. polysaccharide mixt. is used for feeds.

ADVANTAGE - Prevention of colonisation of food poisoning causative Salmonella bacteria in the intestine.

In an example, a kneaded mixt. of 100 kg of copra meal powder and 500 g of honey was adjusted to contain 65% of water and pH 5.0 with 0.5% citric acid. Aspergillus niger IFO 8541 was inoculated to the mixt. and cultured under aeration for 4 days. Then 100 kg of copra meal was added and caused to react at 50 deg. C for 12 hrs. The reaction mixt. was filtered and the filtrate was spray dried to give the mannose gp. polysaccharide contg. feed. Addn. of the prod. to feed of chicken at a rate of 0.25% resulted death rate of 0.33% due to fatty liver and egg prodn. out of grade at 1.2%, while control gp. without addn. showed corresponding rate of 1.52% and 2.8%, respectivel y.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS:

FEED CONTAIN MANNOSE GROUP PREVENT SALMONELLA CONTAMINATE PREPARATION CULTURE PRODUCE MICROORGANISM MANNAN CONTAIN MEDIUM CAUSE DECOMPOSE MANNAN

DERWENT-CLASS: B04 D13

CPI-CODES: B04-C02F; B14-A01A8; D03-G01; D05-A02C;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 \*01\* Fragmentation Code M423 M710 M903 N131 Q214 V735

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1996-115104

# PTO 2003-921

S.T.I.C. Translations Branch

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-173055

(43)公開日 平成8年(1996)7月9日

A 2 3 K 1/16 3 0 3 D 3 0 4 C 1/18 B D A 6 1 K 47/36 Z 審査請求 未請求 請求項の数3 書面 (全 4 頁)  (21)出願番号 特願平6-340863 (71)出願人 594058241 星田 真一	(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号 庁内整理番号	FΙ	技術表示箇所
1/18 B D A 6 1 K 47/36 Z 審査請求 未請求 請求項の数3 書面 (全 4 頁) (21)出願番号 特願平6-340863 (71)出願人 594058241	A 2 3 K 1/16	303 D		
D A 6 1 K 47/36 Z 審査請求 未請求 請求項の数3 書面 (全 4 頁) (21)出願番号 特願平6-340863 (71)出願人 594058241		304 C		
A 6 1 K 47/36     Z       審査請求 未請求 請求項の数3 書面 (全 4 頁)       (21)出願番号 特願平6-340863     (71)出願人 594058241	1/18	В		
審査請求 未請求 請求項の数3 書面 (全 4 頁) (21)出顧番号 特願平6~340863 (71)出願人 594058241		D		
(21)出願番号 特顯平6-340863 (71)出顧人 594058241	A61K 47/36	Z		
			審查請求	未請求 請求項の数3 書面 (全 4 頁)
<b>星田 真一</b>	(21)出願番号	特願平6-340863	(71)出顧人	594058241
				星田 真一
(22)出願日 平成6年(1994)12月21日 静岡県小笠郡菊川町青葉台3丁目9番地の	(22)出顧日	平成6年(1994)12月21日		静岡県小笠郡菊川町青葉台3丁目9番地の
20				20
特許法第30条第1項適用申請有り 平成6年7月30日発 (71)出願人 391040238	特許法第30条第1項	適用申請有り 平成6年7月30日発	(71)出願人	391040238
行の中日新聞に掲載 有限会社生物科学産業研究所	行の中日新聞に掲載			有限会社生物科学産業研究所
静岡県磐田市高町41番地の3				静岡県磐田市高町41番地の3
(71) 出願人 594058252			(71)出顧人	594058252
株式会社養日化学研究所				株式会社養日化学研究所
愛知県名古屋市守山区町北9番25号				愛知県名古屋市守山区町北9番25号
(72)発明者 星田 真一			(72)発明者	星田 真一
静岡県小笠郡菊川町青葉台3丁目9番地の				静岡県小笠郡菊川町青葉台3丁目9番地の
20				20
最終頁に続く				最終頁に続く

#### (54) 【発明の名称】 マンノース系多糖体含有飼料

#### (57)【要約】

【目 的】生産性に優れ、かつサルモネラ汚染防止に有効なマンノース系多糖体配合の家畜用飼料を提供する。 【構 成】グアー豆、コプラ搾油残粕等を酵素処理して調製したマンノース系多糖体を配合してなる家畜用飼料を投与することによって、脂肪肝鶏の減少、格外卵率の減少などの生産性に寄与すると共に、サルモネラ汚染防止を有効に達成することを特徴とする。 1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】マンノース系多糖体を配合することを特徴 とする家畜用飼料

【請求項2】マンノース系多糖体を配合することによ り、サルモネラ菌の汚染を防止することを特徴とする家 畜用飼料

【請求項3】マンナンを構成成分とする培地に、マンナ ーゼを産生する微生物を培養し、自己消化反応とマンナ ン部分分解反応とを同一系内で行うことを特徴とする飼 料添加物マンノース系多糖体の製造方法

# 【発明の詳細な説明】

【0001】本発明は、マンノース系多糖体を配合する ことを特徴とする家畜用飼料に関するものである。

#### [0002]

【産業上の利用分野と従来の技術】近年、畜産業界では 飼料の高カロリー化に伴う蓄積脂肪の弊害、例えば産卵 鶏の脂肪肝による損耗、ブロイラー・肥育豚の腹腔脂肪 の過多等が問題となって来ている。

【0003】また、食中毒の原因菌としてのサルモネラ 菌の汚染も年々増加しており、畜産業界におけるサルモ 20 ネラ汚染の防止も、非常に重要な課題となって来てい

#### [0004]

【発明が解決しようとする課題】本発明は、マンノース 系多糖体が家畜用飼料としての生産性に優れる事と、特 にサルモネラ菌の防止に有用であることに基づいて、畜 産業界にマンノース系多糖体含有飼料を提供することを 目的とする。

# [0005]

【課題を解決するための手段】本発明に用いるマンノー ス系多糖体は、マンナンを含む素材を酵素分解して得ら れる。マンナンとは、マンノースを主な構成成分とする 多糖類をいう。例えばその由来、構成などにより分類し て示せば以下のものが挙げられる。

# ❶植物由来のマンナン

ココナッツ椰子から得られるコプラミール、フーク、南 アフリカ産椰子科植物Huacra Palm、ツクネ イモマンナン、ヤマイモマンナン。

#### **ロ**グルコマンナン

コンニャクイモ、ユリ、スイセン、ヒガンバナ地下茎か 40 ら得られるマンノースを含有するマンナン。

#### ③ガラクトマンナン

ローガストビーンガム、大豆種皮由来のソイビーンフ ル、タムソンガム、グアーガムなどのマンノースの外に ガラクトースを含有するマンナン。

#### ❷その他

キサンタンガムなどのマンノース以外に2種類以上の糖 により構成されるマンナン。本発明のマンノース系多糖 体は、前述のマンナンを構成成分とするものから選択さ

り分解することにより得られる。使用する酵素はβ-マ ンノシターゼ等を用いる。β-マンノシターゼは、例え ばバイオテクノロジーレター第10巻9号p.661~ 664記載の方法により

Bacillus subtilis ATCC 12 711

Streptomyces olivochromog enes ATCC 21713

また、日本農芸化学会:Biosci. Biotech Biochem., 56巻5号p. 822~824 10 (1992) に示される

Aspergillus niger IFO 666 2, IFO 8541

Penicillium wortmanni

などの公知の当該酵素生産菌群より選ばれる菌株を培 養、発酵させることにより得られる。このほか、Asp ergillus nigerによるendo型へミセ ルラーゼを用いる事もできる。本発明では、マンナンを 含む素材を酵素分解して得られるマンノース系多糖体を 有効成分とするのであるが、例えばグアーガムを原料と する方法は次の通りである。小麦フスマ90kg、脱脂 大豆100kg、ローガスト豆粉砕物(60メッシュ通 過) 50kgに等量の水を加え、3kg/cm<sup>2</sup>で1時 間加圧殺菌した後、30m3 醗酵タンクに移し水を加え て全量を10m3とする。培地の初発pHを5.5に、 液温を35℃に調節し、この培地に別に純粋培養したA spergillus saitoi ATCC143 32の種菌100gを接種し、通気攪拌培養をおこなっ た。4日後、上記培養液1m3をジャケット付き攪拌槽 へとり、市販グアーガム15kgを溶解させ15%クエ ン酸溶液にてpH5.0、50℃で3時間反応させた。 粘度の低くなった反応液をフィルタープレス沪過処理で 透明液とし、全量を1/4容量に減圧濃縮した。この液 に30kgのジャガイモ澱粉を懸濁させスプレー乾燥機 にて目的とするマンノース系多糖体を含む標品を得るこ とができる。その他、コプラミールをガラクトマンナー ゼ等で酵素処理することによっても得られるが、本発明 に用いるマンノース系多糖体は、マンノースの繰り返し 単位が40~100個の多糖類を中心(30~80%) とし、オリゴ糖も(5~30%)混在する糖組成物であ る。

#### [0006]

【発明の効果】以下に製造例を示し、調製して得たマン ノース系多糖体粉末を用いて本発明の効果を具体的に実 施例で説明する。

## [0007]

【製造例1】あらかじめフラスコによる前培養した種菌 を5%(v/v)、酵素生産培地(コプラミール4%、 KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> 1%、ペプトン0.9%、MgSO<sub>4</sub>·7 れたマンナン含有組成物やマンナンそのものを酵素によ 50 H<sub>2</sub> O 0.05%、酵母エキス0.2%、およびコーン

スティーブリカー0.5%、pH5.4)40▲リット ル▼を投入、殺菌してなる60▲リットル▼容量の発酵 槽で96時間通気、攪拌培養をおこなう。十分所望の酵 素生産が終了した段階で発酵槽の温度を50℃に上げ2 回に分けて蒸煮コプラミール1kgを発酵槽へ投入し酵 素反応、分解を12時間攪拌条件下で実施する。得られ る反応物をプレコート沪過機にて完全に不溶物を取り除 き、全容をスプレードライヤーにて噴霧乾燥し目的のマ ンノース系多糖体を調整した。

【0008】前記した製造例1の製造方法は、液体培地 10 物を得た。 中で酵素マンナーゼの生産を行う行程と自己消化反応と マンナンの加水分解反応行程とを同一系内にて進めるこ とを特徴とする進歩性の高い技術である。その上に、培 地を下記のような固体培地に変えると本発明のマンノー ス系多糖体を製造する際の生産効率は顕著に改善され る。

#### [0009]

【製造例2】コプラミール(40~80メッシュ)10 Okgと糖蜜500gとを混練し、5g/▲リットル▼ のクエン酸を含むpH5.0にアルカリ中和調製された 20 緩衝液にて水分65%に調製してなる固体培地を蒸煮殺 **粛したものをカワタ工業トロムメル型製麹機に仕込み、\*** 

\*Aspergillus niger IFO 854 1種菌培養液を接種後30℃にて4日間培養した。得ら れた培養物に100kgの蒸煮コプラミールとクエン酸 緩衝液(p H 5 . 0 ) 1 0 0 ▲リットル▼を追加し、温 度を50℃に上げて15時間反応を続けた。反応終了後 全量を1トン容量の攪拌槽へ移し、300▲リットル▼ の水を加えて攪拌しながらフィルタープレスにて沪過し た。沪液を1/5容量に減圧濃縮し、等量のコーンミー

4

ルを懸濁させ攪拌しながらドラム乾燥機にて乾燥し目的

[ 0010]

【実施例1】強制換羽後540日令のデカルブTX-3 5各2000羽を3区に分け、市販の成鶏飼料を対照区 に、また試験区には対照区と同一飼料に対し製造例にて 調製した粉末をマンノース系多糖体として〇.05重量 %、0.25重量%となるように添加混合し、不断給餌 し飲水は自由摂取させた。

【 0011】投与開始後112日(16週間)後まで の各区の格外卵率、脂肪肝による死亡率の結果を下表に 示す。

【表1】

区 マンノース系多糖体の添加率(		格外卿率(%)	脂肪肝死亡率(%)	
1	無添加	2. 8	1. 52	
2	0. 05%	1. 5	0. 84	
3	0. 25%	1. 2	0. 33	

【0012】以上により、マンノース系多糖体を添加し た試験区は、

- (1)破卵、ヒビ卵、ザラツキ卵等の格外卵率が少な く、卵の商品価値を高める。
- (2) 脂肪肝鶏の発生が少なく、生存率、生産性向上さ せる。

ことに優れた結果を示した。

【0013】採卵鶏で、脂肪肝鶏の減少が認められたの と同様、マンノース系多糖体を与えたブロイラーでも腹 腔脂肪の減少が認められる。但し、マンノース系多糖体 の添加率を0.15重量%以上に設定すると、ブロイラ ーの育成後期の増体が無添加の対照区よりも少なくなる 40 反面、対照区よりも油分の少ないあっさりした味の付加※

※価値の高い肉質の作出に有用となる。

30 【0014】こうした家禽特有の効果は、例えば従来の オリゴ糖等による家畜の下痢予防や増体についての効果 とは全く異なる作用によるものであり、本発明のマンノ —ス系多糖体の独自の作用によるものと考えられる。

[0015]

【実施例2】市販の配合飼料を滅菌したものを飼料とし て用いて飼養した4日令のヒナ (鶏種ジュリア) のその う内に、サルモネラ・エンテリティディス

(Salmonella Enteritidis)菌 8.6×105個/羽を投与した。また、滅菌飼料中に は、試験区として製造例にて調製したマンノ多糖体の添 加率を下表のように設定混合して常時供与した。

表2	マンノ多糖体濃度
試験区1	0. 25%
試験区2	1. 25%
対照区	無添加

各区のヒナは20羽とし、4日令時に5羽を殺処分し て、その盲腸及び脾臓より菌の分離をはかり、それ以降 の菌の回収は排泄された盲腸便にて週2回行った。サル★50 【0016】

★モネラ薗存否の判定(+,-)は、常法により増薗の 上、定性判定を行った。

10/07/2002, EAST Version: 1.03.0002

5

【結果1】サルモネラ菌投与前(4日令時)のヒナは全\* \*て陰性であった。

表3	牌雕	盲腸
試験区1	-	_
試験区2	-	_
対照区	_	_

[0017]

※サルモネラ菌の排菌結果は表4のとおりであった。

【結果2】サルモネラ菌投与後59日間、飼養した際の※

【表4】

( ) / HID) ( )	THE CYCING YAR	12013	
投与後日数	試験区1	試験区2	対照区
3	+	+	+
6	+	+	+
10	+	+	+
13	+	+	_ +
17	+	+	+
20	+	+	+
24	+	+	+
27	+	+	+
31	+	+	+
34	+	+	+
38	+	+	+
41	+	_	+
45	_	_	+_
48	_		+
52		-	+
56	_		+
59		_	+-

【0018】以上により、マンノース系多糖体を添加した試験区は、サルモネラ菌を排除することに優れた結果を示した。なお、当該人工感染試験よりも緩やかな条件下である実際上でのインエッグ対策においては、マンノース系多糖体の使用濃度は更に低濃度に設定できるため、その実用性が大いに期待される。 ★

★【0019】以上の結果から、マンノース系多糖体配合 飼料は、畜産における生産性に寄与するばかりでなく、 非常に大きな問題点となっている食中毒の原因菌である サルモネラ菌の家畜腸内での定着防止に有用であること も判明したことから、本発明の当該産業上の利用性は極 ★30 めて大きいものと考えらる。

フロントページの続き

(72)発明者 川野 隆嗣

静岡県磐田市高町41番地の3

(72)発明者 井戸田 満

愛知県名古屋市守山区町北9番25号



# **MACHINE-ASSISTED TRANSLATION (MAT):**

(19)【発行国】

日本国特許庁(JP)

(19)[ISSUINGCOUNTRY]

Japanese Patent Office (JP)

(12)【公報種別】

公開特許公報 (A)

Laid-open (Kokai) patent application number

(A)

(11)【公開番号】

特開平8-173055

(11)[UNEXAMINEDPATENTNUMBER]

Unexamined-Japanese-Patent 8-173055

(43)【公開日】

平成8年(1996)7月9日

(43)[DATEOFFIRSTPUBLICATION]

Heisei 8 (1996) July 9

(54) 【発明の名称】

マンノース系多糖体含有飼料

(54)[TITLE]

Mannose type polysaccharide containing fodder

(51)【国際特許分類第6版】

A23K 1/16 303 D

1/18

304 C

B D

Ζ

**(51)[IPC]** A23K 1/16

303D

304C

1/18 B

D

A61K47/36

Ζ

【審査請求】 未請求

[EXAMINATIONREQUEST] UNREQUESTED

【請求項の数】 3

A61K 47/36

[NUMBEROFCLAIMS] Three

【出願形態】 書面

[Application form] Document

【全頁数】 4

[NUMBEROFPAGES] Four

(21)【出願番号】

特願平6-340863

(21)[APPLICATIONNUMBER]

Japanese-Patent-Application-No. 6-340863

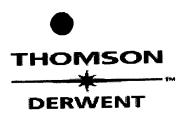
(22)【出願日】

平成6年(1994)12月2 1日

(22)[DATEOFFILING]

December 21st, Heisei 6 (1994)

【新規性喪失の例外の表示】 特許法第30条第1項適用申請 [The display of the exception of novelty loss]



の中日新聞に掲載

有り 平成6年7月30日発行 Patent-law 30th item//stripe first item application application existence It will insert to 中日新聞

of issue in Heisei 6 for July 30 days.

(71)【出願人】

(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

[IDCODE]

594058241

594058241

星田 真一 【氏名又は名称】

Shinichi Hoshida

【住所又は居所】

[ADDRESS]

静岡県小笠郡菊川町青葉台3丁 目9番地の20

(71)【出願人】

(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

[IDCODE]

391040238

391040238

【氏名又は名称】

有限会社生物科学産業研究所

Research Institute of Industrial Bioscience

【住所又は居所】

[ADDRESS]

静岡県磐田市高町41番地の3

(71)【出願人】

(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

[IDCODE]

5 9 4 0 5 8 2 5 2

594058252

【氏名又は名称】

株式会社養日化学研究所

Younichi Kagaku Kenkyusho K.K.

【住所又は居所】

[ADDRESS]

愛知県名古屋市守山区町北9番

25号

(72)【発明者】

(72)[INVENTOR]



【氏名】 星田 真一 Shinichi Hoshida

【住所又は居所】

[ADDRESS]

静岡県小笠郡菊川町青葉台3丁

目9番地の20

(72)[INVENTOR]

(72)【発明者】

【氏名】 川野 隆嗣

Takashi Kawano

【住所又は居所】

[ADDRESS]

静岡県磐田市高町41番地の3

(72)【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】 井戸田 満 Mitsuru Idota

[ADDRESS]

【住所又は居所】 愛知県名古屋市守山区町北9番 25号

(57)【要約】

(57)[SUMMARY]

【目的】

生産性に優れ、かつサルモネラ 汚染防止に有効なマンノース系 多糖体配合の家畜用飼料を提供 する。

[OBJECT]

To provide fodder for livestock blended with a mannose type polysaccharide excellent in productivity and effective for preventing Salmonella pollution.

【構成】

グアー豆、コプラ搾油残粕等を 酵素処理して調製したマンノー ス系多糖体を配合してなる家畜 用飼料を投与することによっ て、脂肪肝鶏の減少、格外卵率 の減少などの生産性に寄与する と共に、サルモネラ汚染防止を 有効に達成することを特徴とす る。

[SUMMARY OF THE INVENTION]

The subject invention is characterized by administering fodder for livestock compounded with mannose type polysaccharide prepared after carrying out enzyme treatment of guar beans, copra extraction residue, etc to contribute to productivity such as reduction of a fatty-liver hen and reduction of below-grade egg and effectively production rate Salmonella pollution.



【特許請求の範囲】

[CLAIMS]

### 【請求項1】

マンノース系多糖体を配合する ことを特徴とする家畜用飼料

# [CLAIM 1]

Fodder for livestock characterised compounding a mannose type polysaccharide.

## 【請求項2】

マンノース系多糖体を配合する ことにより、サルモネラ菌の汚 染を防止することを特徴とする 家畜用飼料

# [CLAIM 2]

Fodder for livestock characterised by preventing Salmonella pollution by compounding a mannose type polysaccharide.

### 【請求項3】

に、マンナーゼを産生する微生 物を培養し、自己消化反応とマ ンナン部分分解反応とを同一系 内で行うことを特徴とする飼料 添加物マンノース系多糖体の製 造方法

# [CLAIM 3]

マンナンを構成成分とする培地 A manufacturing method of a feed-additive mannose type polysaccharide, in which the microorganisms producing a mannase are cultivated to culture medium having mannan as the component, and autolytic reaction and mannan partial decomposition reaction are performed in the same system.

#### 【発明の詳細な説明】

# [DETAILED DESCRIPTION OF INVENTION]

#### [0001]

本発明は、マンノース系多糖体 を配合することを特徴とする家 畜用飼料に関するものである。

#### [0001]

This invention relates to the fodder for livestock characterized by compounding a mannose type polysaccharide.

[0002]

#### [0002]

術】

近年、畜産業界では飼料の高力 ロリー化に伴う蓄積脂肪の弊 害、例えば産卵鶏の脂肪肝によ る損耗、ブロイラー・肥育豚の 腹腔脂肪の過多等が問題となっ て来ている。

# 【産業上の利用分野と従来の技 [An INDUSTRIAL APPLICATION and a PRIOR ARTI

In recent years, in the stock-raising industry, the bad effect of an accumulated fat accompanied to high calorie-ization of fodder has been the problem, for example, the consumption by the fatty liver of a laying hen, excess of the abdominal-cavity fat of a broiler and fattening pig etc.



[0003]

また、食中毒の原因菌としての サルモネラ菌の汚染も年々増加 しており、畜産業界におけるサ ルモネラ汚染の防止も、非常に 重要な課題となって来ている。

[0004]

【発明が解決しようとする課 題】

本発明は、マンノース系多糖体 が家畜用飼料としての生産性に 優れる事と、特にサルモネラ菌 の防止に有用であることに基づ いて、畜産業界にマンノース系 多糖体含有飼料を提供すること を目的とする。

[0005]

【課題を解決するための手段】 本発明に用いるマンノース系多 糖体は、マンナンを含む素材を 酵素分解して得られる。マンナ ンとは、マンノースを主な構成 成分とする多糖類をいう。例え ばその由来、構成などにより分 類して示せば以下のものが挙げ られる。

(1)植物由来のマンナン

ココナッツ椰子から得られるコ プラミール、フーク、南アフリ 力産椰子科植物Huacra Palm、ツクネイモマンナン、 ヤマイモマンナン。

(2)グルコマンナン

ン、ヒガンバナ地下茎から得ら れるマンノースを含有するマン [0003]

Moreover, a contamination of Salmonella as a pathogenic microbe of food poisoning is also increased every year, and it has been the subject also with very important prevention of the Salmonella contamination in the stockraising industry.

[0004]

[PROBLEM ADDRESSED]

This invention is aimed at providing mannose type polysaccharide containing fodder in the stock-raising industry based on that a mannose type polysaccharide is excellent in productivity as fodder for livestock, and useful to prevention of Salmonella especially.

[0005]

[SOLUTION OF THE INVENTION]

The mannose type polysaccharide used for this the enzymatic invention carries out decomposition of the raw material containing mannan, and is obtained.

Mannan means the polysaccharide which makes the mannose the main component.

For example, if it categorizes according to the origin, structure, etc. and it shows, the following thing will be mentioned.

(1) Plant-derived mannan

The copra meal obtained from a coconut palm, "fook", South Africa produced-in Palmae Palm, Tsukuneimo' vegetable Huacra (Dioscorea opposita Thunb) mannan, yam mannan.

(2) Glucomannan

Mannan containing the mannose obtained コンニャクイモ、ユリ、スイセ from a konjak potato, a lily, a narcissus, and a Lycoris-radiata underground stalk.

(3) Galactomannan

Mannan which contains galactose the



ナン。

## (3)ガラクトマンナン

、, ローガストビーンガム、大豆種 皮由来のソイビーンフル、タム ソンガム、グアーガムなどのマ ンノースの外にガラクトースを 含有するマンナン。

# (4)その他

Bacillus subti lis ATCC 12711 Streptomyces o livochromogene s ATCC 21713 また、日本農芸化学会:Bio sci. Biotech Bi ochem., 56巻5号p. 8 22~824 (1992) に示

Aspergillus ni ger IFO 6662, I FO 8541

Penicillium wortmanni

などの公知の当該酵素生産菌群 より選ばれる菌株を培養、発酵 させることにより得られる。こ のほか、Aspergillu s nigerによるendo

besides mannose, such as a logust bean gum, the soy-bean full derived from a soybean seed coat, "tamson gum", and a guar gum.

# (4) Others

Mannan comprised with or more of 2 kind saccharide in addition to mannose, such as a xanthan gum.

The mannose type polysaccharide of this invention is obtained by decomposing with an enzyme the mannan containing composition chosen from that which makes the abovementioned mannan a component, and the mannan itself.

The enzyme to use, (beta)-mannosidases, etc. is used

(beta)-mannosidases, For example, by the method of p.661-664 the biotechnology letter 10th volume of No. 9.

Bacillus subtilis ATCC 12711, streptomyces olivochromogenes ATCC 21713, moreover, in Japanese agricultural-chemistry meeting:Biosci.Biotech Biochem. 56 volume 5 No. p.822-824 (1992), it is shown.

Aspergillus niger IFO 6662,IFO 8541

Penicillium wortmanni

It is obtained by cultivating and fermenting the strain chosen out of the well-known concerned enzyme production microbe group of above etc.

In addition, endo type hemicellulase by Aspergillus niger can also be used.

It is containing as an ingredient the mannose type polysaccharide obtained by carrying out the enzymatic decomposition of the raw material containing mannan in this invention.

However, the method of using a guar gum as a raw material, for example, is as follows.

Equivalence water is added to wheat wheat-bran 90kg, 100kg of defatted soybeans, and 50kg (60 mesh passing-through) of logust beans ground materials. After carrying out 1 hour pressurization sterilization by 3 kg/cm2, it moves to 30m3 fermentation tank, water is added, and the whole quantity is set to 10 m3. Initial pH of a culture medium is adjusted to 5.5, and a temperature is adjusted to 35 degrees-Celsius.



型へミセルラーゼを用いる事も できる。本発明では、マンナン を含む素材を酵素分解して得ら れるマンノース系多糖体を有効 成分とするのであるが、例えば グアーガムを原料とする方法は 次の通りである。小麦フスマ9 Okg、脱脂大豆100kg、 ローガスト豆粉砕物(60メッ シュ通過) 50kgに等量の水 を加え、3 k g/cm で1時 間加圧殺菌した後、30m 醗 酵タンクに移し水を加えて全量 を10m とする。培地の初発 pHを5.5に、液温を35℃ に調節し、この培地に別に純粋 培養したAspergillu saitoi ATCC1 4332の種菌100gを接種 し、通気攪拌培養をおこなった。 4日後、上記培養液1m をジ ャケット付き攪拌槽へとり、市 販グアーガム15kgを溶解さ せ15%クエン酸溶液にてpH 5. 0、50℃で3時間反応さ せた。粘度の低くなった反応液 をフィルタープレス濾過処理で 透明液とし、全量を1/4容量 に減圧濃縮した。この液に30 kgのジャガイモ澱粉を懸濁さ せスプレー乾燥機にて目的とす るマンノース系多糖体を含む標 品を得ることができる。その他、 コプラミールをガラクトマンナ ーゼ等で酵素処理することによ っても得られるが、本発明に用 いるマンノース系多糖体は、マ ンノースの繰り返し単位が40 ~100個の多糖類を中心(3 0~80%)とし、オリゴ糖も (5~30%) 混在する糖組成 物である。

100g of the spawns of Aspergillus saitoi ATCC14332 which carried out pure culture to this culture medium independently is inoculated.

The aeration stir culture was performed.

Above grow-medium 1m3 will be taken to the stir tank with a jacket 4 days after. Commercially available guar-gum 15kg was made to dissolve, and it was made to react for 3 hours by pH5.0 and 50 degrees-Celsius with a citric-acid solution 15%.

The reaction solution which became low viscosity was used as the transparent liquid by filter-press filtration processing, and the whole quantity was concentrated under reduced pressure in 1/4 volume.

This liquid can be made to be able to suspend a 30kg potato starch, and the preparation containing the mannose type polysaccharide set into the objective with the spray drying machine can be obtained.

In addition, it is obtained also by treating with enzyme a copra meal by the galacto mannase etc.

However, the mannose type polysaccharide used for this invention sets the polysaccharide whose repeating unit of the mannose is 40-100 center (30-80%).

It is the saccharide composition to which an oligosaccharide is also intermingled (5-30%).



[0006]

[0006]

## 【発明の効果】

以下に製造例を示し、調製して 得たマンノース系多糖体粉末を 用いて本発明の効果を具体的に 実施例で説明する。

[0007]

# 【製诰例1】

あらかじめフラスコによる前培 養した種菌を5%(v/v)、酵 素生産培地(コプラミール4%、 KH PO 1%、ペプトン0. 9%, MgSO · 7H O 0. 05%、酵母エキス0.2%、 およびコーンスティーブリカー 0. 5%, pH5. 4) 40 J ットルを投入、殺菌してなる6 0リットル容量の発酵槽で96 時間通気、攪拌培養をおこなう。 十分所望の酵素生産が終了した 段階で発酵槽の温度を50℃に 上げ2回に分けて蒸煮コプラミ ール1kgを発酵槽へ投入し酵 素反応、分解を12時間攪拌条 件下で実施する。得られる反応 物をプレコート濾過機にて完全 に不溶物を取り除き、全容をス プレードライヤーにて噴霧乾燥 し目的のマンノース系多糖体を 調整した。

#### [0008]

前記した製造例1の製造方法は、液体培地中で酵素マンナーゼの生産を行う行程と自己消化反応とマンナンの加水分解反応

## [EFFECT OF THE INVENTION]

A manufacture example is shown below.

An Example demonstrates this effect of the invention concretely using the mannose type polysaccharide powder prepared and obtained.

[0007]

# [Manufacture example 1]

5% (v/v) of the pre-cultivated spawns according to a flask beforehand, Enzyme production culture medium (copra meal 4% and KH2PO41%) Peptone 0.9% and MgSO4.7 H2O0.05%, 0.2% of yeast extract, corn steep liquor 0.5%, pH5.4 40 liter. The above is inserted. Amount of the 60 liter fermenter to sterilize performs aeration and the stir culture for 96 hours.

The temperature of a fermenter is raised in the phase which sufficient desired enzyme production completed to 50 degrees-Celsius. Steaming copra meal 1kg is inserted to a fermenter in 2 steps, and an enzyme reaction and a decomposition are implemented on the stir conditions for 12 hours.

An insoluble matter is removed the reaction material obtained completely with a precoat-filtration machine. Spray drying of the whole picture was carried out by the spray dryer, and the target mannose type polysaccharide was adjusted.

#### [8000]

The manufacturing method of the abovementioned manufacture example 1, the process which produces an enzyme mannase in a broth, and autolytic reaction and the hydrolysisreaction process of mannan are advanced by



行程とを同一系内にて進めることを特徴とする進歩性の高い技術である。その上に、培地を下記のような固体培地に変えると本発明のマンノース系多糖体を製造する際の生産効率は顕著に改善される。

[0009]

# 【製造例2】

コプラミール(40~80メッ シュ) 100kgと糖蜜500 gとを混練し、5g/リットル のクエン酸を含む p H 5. 0 に アルカリ中和調製された緩衝液 にて水分65%に調製してなる 固体培地を蒸煮殺菌したものを カワタ工業トロムメル型製麹機 に仕込み、Aspergill niger IFO u s 541種菌培養液を接種後3 0℃にて4日間培養した。得ら れた培養物に100kgの蒸煮 コプラミールとクエン酸緩衝液 (pH5.0) 100リットル を追加し、温度を50℃に上げ て15時間反応を続けた。反応 終了後全量を1トン容量の攪拌 槽へ移し、300リットルの水 を加えて攪拌しながらフィルタ ープレスにて濾過した。濾液を 1/5容量に減圧濃縮し、等量 のコーンミールを懸濁させ攪拌 しながらドラム乾燥機にて乾燥 し目的物を得た。

[ 0010]

【実施例1】

the same inside system.

It is the high technique of the advance property characterized by the above-mentioned.

If a culture medium is changed into the following solid mediums on it, productive efficiency at the time of manufacturing the mannose type polysaccharide of this invention will be improved notably.

[0009]

# [Manufacture example 2]

Copra meal (40-80 meshes) 100kg and 500g of treacles are kneaded, and that which carried out steaming sterilization of the solid medium prepared for 65% of water contents by the neutralization buffer which alkali bv manufacture was carried out at pH5.0 containing a 5 g/l citric acid is prepared of a Kawata industrial Trommel type koji-making machine. The Aspergillus niger IFO 8541 spawn grow medium was cultivated for 4 days by 30 degrees-Celsius after an inoculation.

100kg steaming copra meal and 100 liter (pH5.0) of citric-acid buffer were added to the obtained culture, temperature was raised to 50 degrees-Celsius, and reaction was continued for 15 hours.

The whole quantity after the reaction completion is moved to the stir tank of the 1t volume.

It filtered with the filter press, adding and stirring 300-liter water.

A filtrate is concentrated under reduced pressure in the 1/5 volume.

Making suspend and stirring an equivalence corn meal, it dried with the suction drum dryer and the target object was obtained.

[0010]

[Example 1]

Each 2000 birds of 540-day-old DeKalb TX-35



強制換羽後540日令のデカル ブTX-35各2000羽を3 区に分け、市販の成鶏飼料を対 照区に、また試験区には対照区 と同一飼料に対し製造例にて調 製した粉末をマンノース系多糖 体として0.05重量%、0. 25重量%となるように添加限 取させた。

after forced molting are divided into the 3 division. Commercially available fowl fodder is made into a control division, and let the powder prepared by the manufacture example with respect to the same fodder as a control division be a mannose type polysaccharide at a test plot. It each add-mixes so as to become 0.05 weight% and 0.25 weight%.

It fed constant and the freedom ingestion of the drinking water was carried out.

## [ 0011]

投与開始後112日(16週間) 後までの各区の格外卵率、脂肪 肝による死亡率の結果を下表に 示す。

# 【表1】

## [0011]

The result of below-grade egg production rate of each division and the mortality rate by the fatty liver of an after administration start 112 days (for 16 weeks) is shown at the following table.

# [Table 1]

×	マンノース系多糖体の添加率(%)	格外卵率(%)	脂肪肝死亡率(%)
1	無添加	2. 8	1. 52
2	0.05%	1. 5	0. 84
3	0. 25%	1. 2	0. 33

Row: Division, Additional rate of mannose type polysaccharide, Below-grade egg production rate, Mortality rate due to fatty liver

Column: Additional rate of mannose type polysaccharide, no addition

#### [0012]

以上により、マンノース系多糖 体を添加した試験区は、

- (1)破卵、ヒビ卵、ザラツキ 卵等の格外卵率が少なく、卵の 商品価値を高める。
- (2)脂肪肝鶏の発生が少なく、 生存率、生産性向上させる。 ことに優れた結果を示した。

#### [0012]

The test plot which added the mannose type polysaccharide by the above, (1)

Below-grade egg production rate, such as a broken egg, a crack egg, and the roughness egg, are small, and raise the commercial value of an egg.

(2)

Generating of a fatty-liver hen was small and showed the excellent result to carry out on a survival rate and a production disposition.



# [0013]

# [0014]

こうした家禽特有の効果は、例 えば従来のオリゴ糖等による家 畜の下痢予防や増体についての 効果とは全く異なる作用による ものであり、本発明のマンノー ス系多糖体の独自の作用による ものと考えられる。

[0015]

#### 【実施例2】

市販の配合飼料を滅菌したもの を飼料として用いて飼養した4 日令のヒナ(鶏種ジュリア)の そのう内に、サルモネラ・エン テリティディス

(Salmonella Enteritidis)菌8.6 ×10個/羽を投与した。また、滅菌飼料中には、試験区として製造例にて調製したマンノ多糖体の添加率を下表のように設定混合して常時供与した。

# [0013]

As the reduction of a fatty-liver hen accepted with the egg-collection hen, a reduction of an abdominal-cavity fat accepts by the broiler which gave the mannose type polysaccharide.

However if the additional rate of a mannose type polysaccharide is set as 0.15 weight% or more, While the weight gain in the nurturing second half of a broiler decreases from a unadded control division. It consists useful to product the high meat quality of the added value of the light taste with an oil component smaller than a control division.

# [0014]

An effect peculiar to such a domestic fowl is based on an action which completely differs, for example, from the effect about diarrhea prevention and the weight gain of livestock by the conventional oligosaccharide etc.

It is considered that it is based on an original action of the mannose type polysaccharide of this invention.

[0015]

#### [Example 2]

To the inside of the 4-day-old chick (chickenbreed Julia) raised, using as fodder that which sterilized commercially available mixed feed, Salmonella enteritidis (Salmonella Enteritidis) microbe 8.6x105 piece/a bird was administered.

Moreover, into sterilization fodder, as a test plot, as shown in the following table, setting mixing of the additional rate of the manno polysaccharide prepared by the manufacture example was carried out, and a grant of it was always made.



表2	マンノ多糖体濃度
試験区1	0. 25%
試験区2	1. 25%
対照区	無添加

Row: Table 2, Temperature of manno polysaccharide

Column: Table 2, Test division, Control division; Temperature of manno polysaccharide, No addition

各区のヒナは20羽とし、4日 令時に5羽を殺処分して、その 盲腸及び脾臓より菌の分離をは かり、それ以降の菌の回収は排 泄された盲腸便にて週2回行った。サルモネラ菌存否の判定 (+, -) は、常法により増菌 の上、定性判定を行った。

The chick of each division may be 20 birds. 5 birds are slaughtered at the 4 day-old.

The microbe was separated from the appendix and spleen, and the collection of the microbe after it was performed two weeks by the excreted cecal stools.

The judgment (+, -) of the Salmonella existence or nonexistence performed the qualitative evaluation after growing microbes by the conventional method.

[0016]

[0016]

#### 【結果1】

サルモネラ菌投与前(4日令時)のヒナは全て陰性であった。

#### [Result 1]

All the chicks before Salmonella administration (4 day-old ) were negative.

表3	脾臓	盲腸
試験区1	_	<u> </u>
試験区2	_	-
対照区	_	_

Row: Table 3, Spleen, Appendix

Column: Table 3, Test division, Control division

[0017]

[0017]

【結果2】

サルモネラ菌投与後59日間、

[Result 2]

The germ discharge result of Salmonella at the



飼養した際のサルモネラ菌の排 time of raising was for after 59 day of 菌結果は表 4 のとおりであっ administration Salmonella as Table 4. た。

【表4】

[Table 4]

投与後日数	試験区1	試験区2	対照区
3	+	+	+
6	+	+	+
10	+	+	+
13	+	+	+
17	+	+	+
20	+	+	+
24	+	+	+
27	+	+	+
31	+	+	+
34	+	+	+
38	+	+	+
41	+		+
45	_	_	+
48	_		+
52	<del>-</del>		+
56	_	_	+
59	_	_	+

Row: Days after Salmonella administration, Test division, Control division

#### [0018]

以上により、マンノース系多糖体を添加した試験区は、サルモネラ菌を排除することに優れた結果を示した。なお、当該人工感染試験よりも緩やかな条件である実際上でのインエッグ対策においては、マンノース系を糖体の使用濃度は更に低濃度に対けに期待される。

## [0019]

以上の結果から、マンノース系 多糖体配合飼料は、畜産におけ る生産性に寄与するばかりでな く、非常に大きな問題点となっ ている食中毒の原因菌であるサ ルモネラ菌の家畜腸内での定着

#### [0018]

By the above, the test plot which added the mannose type polysaccharide, the excellent result was shown to eliminate Salmonella.

In addition, in the in egg countermeasure which are conditions looser than the concerned artificial infection examination and which comes out in practice, Since the usage concentration of a mannose type polysaccharide can carry out a toward setup further in low concentration, the practicability is highly anticipated.

#### [0019]

The result of above to mannose type polysaccharide mixed feed, Not only contributing to productivity in stock raising but it is useful to fixing prevention within the livestock intestines of Salmonella which is a pathogenic microbe of the food poisoning used as the very big problem.



と考えらる。

防止に有用であることも判明し From having made the above clear, the utility on たことから、本発明の当該産業 the concerned industry of this invention is 上の利用性は極めて大きいもの considered to be an extremely large thing.



# **DERWENT TERMS AND CONDITIONS**

Derwent shall not in any circumstances be liable or responsible for the completeness or accuracy of any Derwent translation and will not be liable for any direct, indirect, consequential or economic loss or loss of profit resulting directly or indirectly from the use of any translation by any customer.

Derwent Information Ltd. is part of The Thomson Corporation

Please visit our home page:

"WWW.DERWENT.CO.UK" (English)
"WWW.DERWENT.CO.JP" (Japanese)